

26.12.03

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 2 年 1 2 月 2 7 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 2 - 3 7 9 4 0 9
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 2 - 3 7 9 4 0 9]

出 願 人 財団法人化学及血清療法研究所
Applicant(s):

REC'D 19 FEB 2004

WIPO

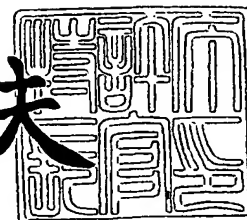
PCT

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年 2 月 5 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 JP428YS

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A61K 37/54
A61K 38/43
A61K 38/48
C07K 14/47

【発明者】

【住所又は居所】 熊本県菊池郡旭志村川辺四の西沖 1 3 1 4 - 1 財団法人化学及血清療法研究所 菊池研究所内

【氏名】 松尾 富士男

【発明者】

【住所又は居所】 熊本県菊池郡旭志村川辺四の西沖 1 3 1 4 - 1 財団法人化学及血清療法研究所 菊池研究所内

【氏名】 須藤 博之

【発明者】

【住所又は居所】 熊本県熊本市大窪一丁目 6 番 1 号 財団法人化学及血清療法研究所内

【氏名】 緒方 洋一

【発明者】

【住所又は居所】 熊本県菊池郡旭志村川辺四の西沖 1 3 1 4 - 1 財団法人化学及血清療法研究所 菊池研究所内

【氏名】 中垣 智弘

【特許出願人】

【識別番号】 000173555

【住所又は居所】 熊本県熊本市大窪一丁目 6 番 1 号

【氏名又は名称】 財団法人 化学及血清療法研究所

【代表者】 内野 矜自

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 056568

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 DIC 治療用組成物

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 活性化プロテイン C（以下、APC と称することがある）を主たる有効成分として含有してなる DIC 患者の生命予後を改善し得る DIC 治療用組成物。

【請求項 2】 敗血症以外の非炎症性疾患に起因する DIC 患者の生命予後を改善し得る、請求項 1 記載の DIC 治療用組成物。

【請求項 3】 造血器悪性腫瘍に起因する DIC 患者の生命予後を改善し得る、請求項 1 または請求項 2 記載の DIC 治療用組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】

本願発明は血漿蛋白質の新たな用途に関する。さらに詳細には、APC を主たる有効成分として含有してなる DIC 治療のための医薬品に関する。

【0002】

【従来の技術並びに発明が解決しようとする課題】

DIC は disseminated intravascular coagulation の略語であり、「播種性血管内凝固」あるいは「汎発性血管内凝固」と訳される。DIC は、種々の基礎疾患が原因で凝固系が持続的に活性化されて過凝固状態となり、全身の主として細小血管内に血栓が多発し、その結果、虚血性臓器障害をきたす症候群で、極めて致死率の高い疾患である。また、DIC では血栓と同時に出血が観られることも特徴であるが、出血も過凝固に起因する消費性凝固障害（止血に必要な凝固因子や血小板が消費された結果低下することによる凝固障害）や二次線溶亢進（フィブリン血栓の分解が亢進する）に基づいている。このように、DIC は極端な血栓傾向であるにも拘わらず、血栓とは逆の出血傾向がしばしば観られることが特徴であるが、そのことが DIC の治療を困難なものにしている。

【0003】

DIC は基礎疾患ごとに発症機序、生命予後等は異なる。基礎疾患に関して、

国際血栓止血学会 (ISTH) / 科学的標準化委員会 (SSC) の DIC 分科会による分類を表 1 に示す (Thromb Haemost, Vol.86: 1327, 2001)。本邦で DIC を発症しやすい基礎疾患としては、敗血症/感染症、骨髄/リンパ球増殖性悪性腫瘍 (myeloproliferative/ lymphoproliferative malignancies; 以後は造血器悪性腫瘍と呼ぶ)、固形癌に大別される。

【0004】

【表 1】

- | |
|-------------------------------------|
| 1) 敗血症/感染症 (病原菌の種類に拘わらず) |
| 2) 外傷 (例: 多数の外傷、神経の外傷、脂肪塞栓) |
| 3) 臓器障害 (例: 急性脾炎) |
| 4) 悪性腫瘍—固形癌、骨髄/リンパ球増殖性悪性腫瘍 |
| 5) 産科疾患—羊水塞栓、胎盤早期剥離 |
| 6) 血管の異常—Kasabach-Merrit 症候群、大血管動脈瘤 |
| 7) 重篤な肝不全 |
| 8) 重度の毒性、免疫反応—蛇毒、麻薬、輸血反応、臓器移植拒絶反応 |

【0005】

DIC の発症機序は基礎疾患により異なり、悪性腫瘍では、癌細胞や白血病細胞は凝固反応のトリガーとなる組織因子を発現していることが多く、特に抗癌剤の使用によりこれらの細胞が破壊されたとき組織因子の放出が急激に起こり過凝固状態が惹起される。また感染症に起因して発症する敗血症では、炎症性サイトカインが原因で血管内皮細胞の傷害が起こり抗血栓性が低下する結果、過凝固状態が惹起され血栓傾向となる。

【0006】

DIC の治療の基本は 1) 基礎疾患の治療による DIC の原因の除去、2) 抗凝固療法、3) 補充療法である。DIC は基礎疾患によりその病態が異なる点はあるが、極端な過凝固状態を呈することでは全ての DIC で共通しており、抗凝固

薬による過凝固からの離脱がD I Cに共通する重要な治療法である。

【0007】

D I C治療に国際的に広く用いられる抗凝固薬としてはヘパリン類（未分画ヘパリン、低分子ヘパリン、ヘパラン硫酸）がある。ヘパリン類は高い抗凝固活性を有しているが、出血を惹起しやすいという欠点を有している。本邦では、合成プロテアーゼ阻害剤（F O Y；フサン）やアンチトロンビンIII（A T III）もD I C治療薬として用いられている。しかし、合成プロテアーゼ阻害剤は出血を惹起しにくい反面、抗凝固活性がヘパリン類に比べて弱く、A T IIIは通常、ヘパリン類と併用されるためヘパリンと同様の欠点を有している。

【0008】

これらD I C治療薬については、その抗凝固作用により過凝固状態を是正することが示されているが、治療の究極的目的であるD I C患者の生命予後を顕著に改善する効果について示された薬剤はなく、D I C患者の生命予後を改善する薬剤の開発が望まれていた。なお、既承認D I C治療薬の臨床試験においては、厚生省D I C研究班が定めたD I Cスコア（厚生省特定疾患血液凝固異常症調査研究班,平成4年度報告書, p.37-41, 1988）の改善により臨床効果を評価しており、予後についての評価はなされていない。

【0009】

【課題を解決するための手段、発明の構成】

A P Cは、血中ではその前駆体のプロテインC（P C）として循環しているが、一旦凝固系が作動しトロンビンが形成されると活性化されセリンプロテアーゼ活性を有するA P Cに変換される。A P Cは、細胞膜リン脂質上で、血液凝固系の活性化第V因子や活性化第VIII因子を選択的に限定分解し失活化させ、強力な抗凝固作用を発揮する（Biochemistry, vol.16, p.5824-5831, 1977; J Biol Chem, vol.258, p.1914-1920, 1982）。また、A P Cは血管内皮細胞あるいは血小板由来の組織プラスミノゲン・アクチベーター・インヒビター（P A I）を中和することにより（Proc Natl Acad Sci USA, vol.82, p.1121-1125, 1985）、また抗線溶因子のT A F I（Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor）の活性化を抑制することにより、線溶系の亢進に関与していると考えられている（

Blood, vol.88, p.2093-2100, 1996)。

【0010】

このようにAPCは強力な抗凝固作用、線溶促進作用を有することから、DIC治療薬として期待されており、実際、DIC患者にAPCが投与されDIC状態から離脱（過凝固状態の是正）させるのに有用であることが知られている（Am J Hematol, vol.33, p.277-278, 1990；新薬と臨床, vol.47, p.448-482, 1998）。また、各種in vivo、in vitro試験より、APCは抗炎症作用を有していることが示されている。例えば、Taylorら（J Clin Invest, vol.79, p.918-925, 1987；Blood, vol.78, p.364-368, 1991）は、一連のヒト敗血症モデルでの実験を行ない、敗血症に起因するDIC様の凝固病変はAPCでも他の抗凝固剤でも同様に是正できるのに対して、致死的作用についてはAPCだけが防止できたことから、APCは敗血症において、サイトカイン産生を抑制し抗炎症作用を示すと考察した。臨床的にもEli Lilly社が実施した重症敗血症患者を対象にした大規模臨床試験において、組換えAPC製剤投与により死亡率が低下すること、また、炎症性サイトカインのIL-6レベルが投与一日目から有意に低下することが示された（N Engl J Med, vol.344, p699-709, 2001）。このようにAPCについては、DIC患者の過凝固状態を是正できることや、炎症性疾患に起因する敗血症患者の予後を改善できることが示されているが、非炎症性の、敗血症以外の基礎疾患に起因するDICに対して予後を改善できるか否かは全く不明であった。

【0011】

上述の状況の下、本願発明者らは、DICを対象疾患にしたAPCの第III相臨床試験（抗凝固薬の国際的スタンダードであるヘパリンを対照薬にした二重盲検比較試験）を実施した。過凝固状態の是正の目安となるDICスコア改善度ではAPC投与群とヘパリン投与群とで統計的な有意差が認められないにも拘わらず、APCが投与された群ではヘパリン投与群に比べ有意に生命予後（生存率）が改善されることを初めて見出し、この知見に基づいて本願発明を完成するに至った。

本願発明に係るDIC治療用組成物は、APCを主たる有効成分とし、DIC患者の予後を改善し得ることに最大の特長を有する。とりわけ、敗血症以外の非

炎症性疾患に起因するDIC患者、なかでも造血器悪性腫瘍に起因するDIC患者の生命予後を好適に改善し得る。

【0012】

本願発明のDIC治療用組成物の本態であるAPCを製造する方法は特に限定されるものではないが、例えばヒト血液より分離した、あるいは遺伝子組換え技術により得られたPCを活性化する方法、ヒト血液よりAPCを分離する方法、あるいは遺伝子組換え技術により直接APCを調製する方法などによって製造することができる。PCからAPCへの活性化の方法には特に制約はなく、例えばヒトやウシなどの血液より分離したトロンビンにより活性化する方法、あるいは組み合せトロンビンにより活性化する方法などにより実施できる。

【0013】

血液由来のAPCの製法としては、以下の方法が挙げられる。例えば、ヒト血漿から抗PC抗体を用いたアフィニティークロマトグラフィーにより精製されたPCを、ヒトトロンビンで活性化した後、陽イオンクロマトグラフィーを用いて精製する方法 (Blood, vol.63, p.115-121, 1984) あるいはKisielによる、ヒト血漿からクエン酸Ba吸着・溶出、硫安分画、DEAE-セファデックスカラムクロマトグラフィー、デキストラン硫酸アガロースクロマトグラフィー及びポリアクリルアミドゲル電気泳動の工程により精製して得られたPCを活性化してAPCとする方法 (J Clin Invest, vol.64, p.761-769, 1979)、あるいは市販のPCを含有する血液凝固製剤を出発材料にして抗PC抗体を用いたアフィニティークロマトグラフィーにより精製されたPCを活性化してAPCとする方法 (J Clin Invest, vol.79, p.918-925, 1987) などがある。

【0014】

また、遺伝子組換え技術を用いてAPCを調製する方法としては、例えば特開昭61-205487号、特開平1-2338号あるいは特開平1-85084号などに記載された方法などがある。

【0015】

上述の方法で調製されたAPCの活性を最大限に維持するために、本願発明のAPCは好適な安定化剤と共に凍結乾燥して保存する。本願発明では、有効成分と

してのAPCと公知の適当な賦形剤を組み合わせ、公知の方法で本願発明のDIC患者の生命予後を改善し得る、DIC治療用組成物とすることが出来る。

【0016】

今回の実施例に使用した血液由来のAPCは、マウス及びイヌでの単回静脈内投与試験、マウス、イヌおよび幼若イヌでの反復静脈内投与試験、マウス生殖試験、局所刺激性試験、一般薬理試験（ビーグル犬を用いた呼吸循環系に及ぼす影響）、ウイルス不活化試験などによりその安全性が確認されている。以下、実施例に沿って本願発明を更に詳細に説明するが、この実施例は本願発明の範囲を何ら限定するものではない。

【0017】

【実施例】

実施例1

悪性腫瘍、白血病に起因するDICおよび内科領域の疾患に併発した感染症に起因するDICに対するAPCの有効性・安全性を検討するために、ヘパリンを対照薬とする第III相二重盲検比較試験を実施した。各製剤の投与量・投与方法は、1) APC（治験コード名：CTC111）；300単位/kg/日の6日間投与、2) ヘパリン；8単位/kg/時間の6日間投与とした。なお、ヘパリンの投与量8単位/kg/時間はDIC治療での標準的な投与量である。この臨床試験でのDICスコアによる改善度の結果を表2に示す。「中等度改善」以上の改善率は、APC投与群が49.0%（24/49）、ヘパリン投与群40.0%（22/55）で両群間の改善率に統計的な有意差は認められなかった（ $P=0.255$ ）。一方、製剤投与終了1ヶ月後までの生存率は、APC投与群が79.6%（39/49）であるのに対して、ヘパリン投与群では60.0%（33/55）で、生存率の差は19.6%であった（表3参照）。また、図1に示すように、生存時間解析の結果、Log-rank検定にて $P=0.045$ （両側）と対照薬ヘパリンに対して予後の優越性が示された。

【0018】

【表2】

| | 著名改善 | 中等度改善 | 軽度改善 | 不変 | 悪化 | 合計 | 中等度改善 以上(%) | 2 標 本 Wilcoxon 検 定 |
|-------|------|-------|------|----|----|----|----------------|--------------------------|
| A P C | 7 | 17 | 9 | 13 | 8 | 49 | 49.0 | Z=1.14 |
| ヘパリン | 9 | 13 | 9 | 14 | 14 | 55 | 40.0 | P=0.255 |

【0019】

【表3】

予後の解析結果 (D I C 患者全体)

| | 生存 | 死亡 | 合計 | 生存率の差 |
|-------|-------------|-------------|----|-------|
| A P C | 39 79.6% | 10 20.4% | 49 | 19.6% |
| ヘパリン | 33 60.0% | 22 40.0% | 55 | |

【0020】

実施例2

上記臨床試験成績について、製剤投与1ヵ月後の死亡率をD I Cの基礎疾患別で評価したとき、造血器悪性腫瘍を基礎疾患にするD I Cでは、A P C投与により顕著に生存率が改善された。すなわち、製剤投与終了後1ヶ月以内の生存率は、A P C投与群が84.9% (28/33) であるのに対して、ヘパリン投与群では61.1% (22/36) で、A P C投与群で有意に生存率が改善された(表4および図2参照)。また、造血器悪性腫瘍以外の基礎疾患での予後の解析結果を表5に示すが、A P C投与群とヘパリン投与群とで生存率に有意な差は観られなかった。

【0021】

【表 4】

予後の解析結果（造血器悪性腫瘍に起因したD I C）

| | 生存 | 死亡 | 合計 | 生存率の差 | Log-rank 検定 (両側) |
|-------|-------------|-------------|----|-------|--------------------------|
| A P C | 28 84.9% | 5 15.1% | 33 | 23.8% | $\chi^2=4.51$ P=0.034 |
| ヘパリン | 22 61.1% | 14 38.9% | 36 | | |

【0022】

【表 5】

予後の解析結果（造血器悪性腫瘍以外の基礎疾患に起因したD I C）

| 基礎疾患 | 薬剤 | 生存率 | Log-rank 検定 (両側) |
|------|-------|-------------|--------------------------|
| 固形癌 | A P C | 2/5 (40%) | $\chi^2=0.07$ P=0.791 |
| | ヘパリン | 3/10 (30%) | |
| 感染症 | A P C | 5/6 (83.3%) | $\chi^2<0.01$ P=0.949 |
| | ヘパリン | 5/6 (83.3%) | |
| その他 | A P C | 4/5 (80%) | $\chi^2=0.60$ P=0.439 |
| | ヘパリン | 3/3 (100%) | |

【図面の簡単な説明】

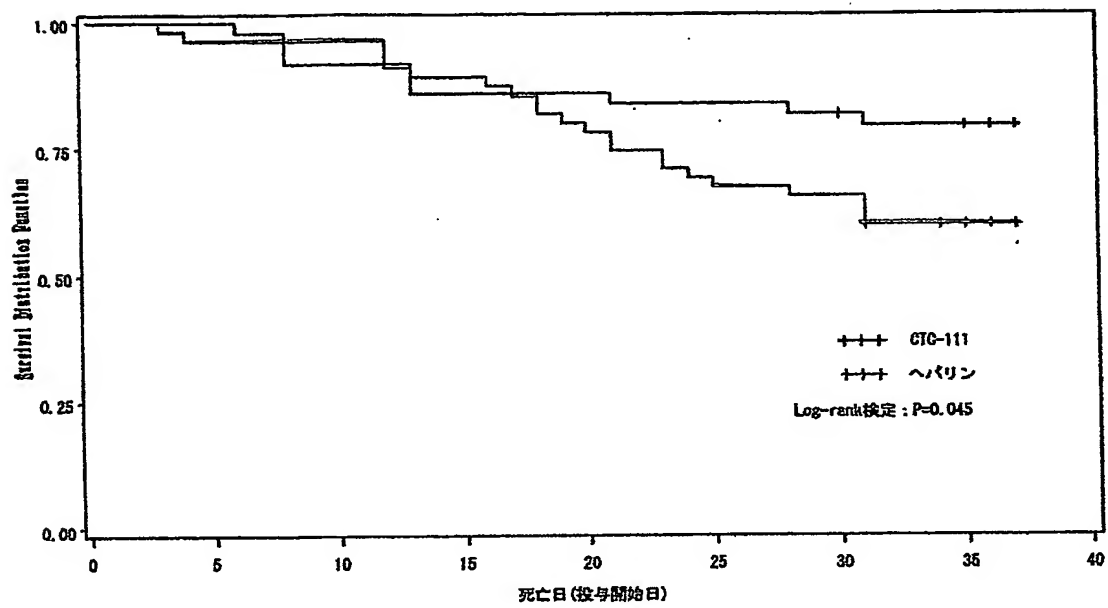
【図 1】 A P C 組成物投与による D I C 患者全体の生存時間解析の結果を示す図である。

【図 2】 A P C 組成物投与による造血器悪性腫瘍を基礎疾患とする D I C 患者の生存時間解析の結果を示す図である。

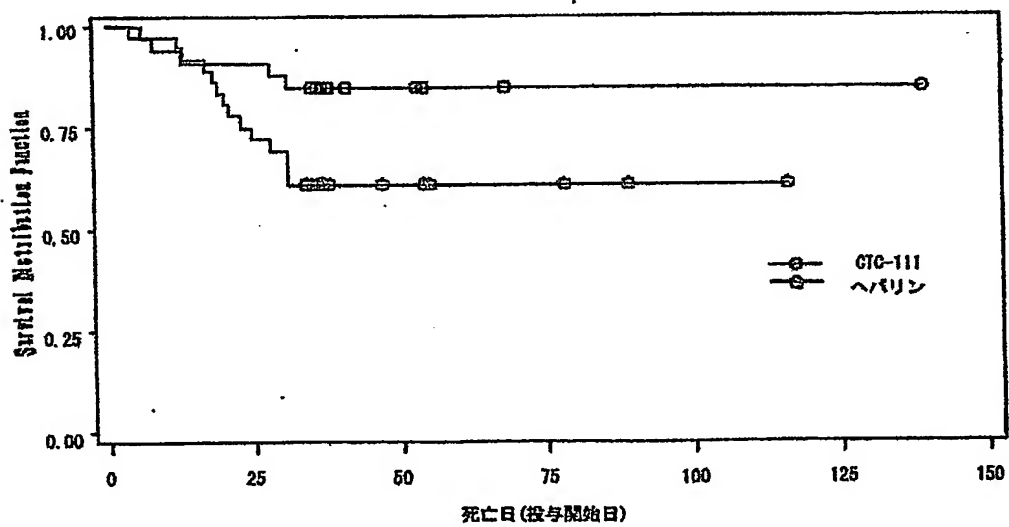
【書類名】

図面

【図 1】



【図 2】



【書類名】

要約書

【要約】

【目的】 播種性血管内凝固症候群 (Disseminated Intravascular Coagulation; DIC) 患者の生命予後 (生存率) を改善し得る DIC 治療用組成物。

【構成】 血漿由来または遺伝子組換え技術を駆使して調製される活性化プロテイン C を有効成分とする患者、とりわけ造血器悪性腫瘍を基礎疾患とする DIC 患者の生命予後 (生存率) を改善し得る DIC 治療用組成物。

認定・付加情報

| | |
|---------|--------------------------|
| 特許出願の番号 | 特願 2 0 0 2 - 3 7 9 4 0 9 |
| 受付番号 | 5 0 2 0 1 9 8 3 8 5 4 |
| 書類名 | 特許願 |
| 担当官 | 第五担当上席 0 0 9 4 |
| 作成日 | 平成 1 5 年 1 月 6 日 |

< 認定情報・付加情報 >

【提出日】 平成14年12月27日

次頁無

特願 2002-379409

出願人履歴情報

識別番号

[000173555]

1. 変更年月日

1996年 3月 4日

[変更理由]

住所変更

住 所

熊本県熊本市大窪一丁目6番1号

氏 名

財団法人化学及血清療法研究所

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.